

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-186881

(P2001-186881A)

(43)公開日 平成13年7月10日 (2001.7.10)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコ-ド ⁸ (参考)
C 1 2 N 15/09		C 1 2 M 1/00	A 2 G 0 5 8
C 1 2 M 1/00		C 1 2 N 11/16	4 B 0 2 4
C 1 2 N 11/16		C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 2 9
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 33/53	M 4 B 0 3 3
G 0 1 N 33/53		33/566	4 B 0 6 3

審査請求 未請求 請求項の数 7 OL (全 11 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-89979(P2000-89979)

(22)出願日 平成12年3月28日 (2000.3.28)

(31)優先権主張番号 特願平11-301627

(32)優先日 平成11年10月22日 (1999.10.22)

(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000004064

日本碍子株式会社

愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号

(72)発明者 廣田 寿一

愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 日

本碍子株式会社内

(72)発明者 則竹 基生

愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 日

本碍子株式会社内

(74)代理人 100077665

弁理士 千葉 剛宏 (外1名)

最終頁に続く

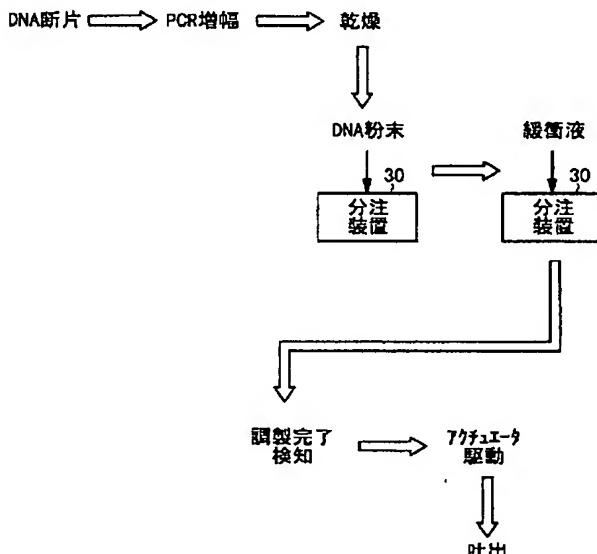
(54)【発明の名称】 DNAチップの製造方法

(57)【要約】

【課題】試料溶液の品質を劣化させることなく、試料溶液の調製から供給までの処理、あるいはPCR增幅から供給までの処理を一連の工程で行えるようにし、しかも、試料溶液の利用率の向上、試料溶液の保管設備の省略化を実現でき、コストの低廉化、DNAチップの品質の向上を図る。

【解決手段】DNA断片をPCR增幅してPCR産物を調製する。その後、前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する。その後、DNA粉末を分注装置30における各マイクロピペットの試料注入口にDNA粉末を充填し、次いで、緩衝液を試料注入口からキャビティ内に注入し、試料溶液を調製する。そして、キャビティ内において試料溶液の調製が完成した後、アクチュエータ部を駆動させて、試料溶液を基板上に吐出供給させる。

FIG. 6



【特許請求の範囲】

【請求項1】試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程と、溶液の供給装置内に前記DNA粉末を供給する工程と、前記供給装置内に緩衝液を供給して試料溶液を調製する工程とを有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項2】試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、前記調製されたPCR産物を溶液の供給装置内に供給する工程と、

前記供給装置内において前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程と、前記供給装置内に緩衝液を供給して試料溶液を調製する工程とを有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項3】試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、溶液の供給装置内においてDNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、

前記供給装置内において前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程と、前記供給装置内に緩衝液を供給して試料溶液を調製する工程とを有し、

前記供給装置を使用して該供給装置内の前記試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項4】試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、溶液の供給装置内においてDNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程を有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記調製後試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項5】請求項1～4のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、前記試料溶液をインクジェット方式で供給することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項6】請求項1～5のいずれか1項に記載のDNAチップの製造方法において、

前記供給装置は、

少なくとも1個以上の基体に、外部から前記試料溶液を注入するための注入口と、前記試料溶液が注入・充填されるキャビティと、前記試料溶液を吐出する吐出口とが形成され、前記キャビティを形成する前記基体の少なくとも一壁面に圧電／電歪素子を備え、前記キャビティ内において前記試料溶液が移動するよう構成されたマイクロピペットが複数配列されて構成され、かつ、各マイクロピペットの吐出口からそれぞれ異なる種類の試料溶液が吐出される分注装置であることを特徴とするDNAチップの製造方法。

【請求項7】請求項6記載のDNAチップの製造方法において、

前記複数のキャビティ内における前記試料溶液の調製完了を、前記キャビティ内の流体特性の変化を検知することにより把握することを特徴とするDNAチップの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、顕微鏡スライドグラス等の基板上に、数千から一万種類以上の異なる種類のDNA断片を微小スポットとして高密度に整列固定させたDNAチップ(DNAマイクロアレイ)の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年における遺伝子構造の解析方法の進歩にはめざましいものがあり、ヒトの遺伝子をはじめとして、多数の遺伝子構造が明らかにされてきている。このような遺伝子構造の解析には、顕微鏡スライドグラス等の基板上に数千から一万種類以上の異なる種類のDNA断片を微小スポットとして整列固定させたDNAチップ(DNAマイクロアレイ)が用いられるようになってきている。

【0003】このDNAチップの製造は、一般的には、DNA断片を含んだ試料溶液の微小なスポットをガラス等の基板上に複数個配列することによって行われ、微小スポットの形成方法としては、QUILL方式、ピン&リング方式、あるいはソリッドピン方式といった、いわゆるピンによる基板上へのDNA断片を含んだ試料溶液の供給(打ち込み)を行う方式が広く用いられており、いずれの方法を採用した場合であっても、各微小スポットの容量と形状のばらつきを低く抑えて、各微小スポット間の距離を一定に保つことが重要となる。

【0004】また、DNA断片を含んだ試料溶液の調製には、PCR増幅工程を用い、ごく僅かな元のDNAから、スポットに要する液量まで増幅して用いられることが多いが、増幅によって得られる液量は、数10μリットル程度であり、かつ、増幅に必要な試薬は高価であるため、得られた液の使用効率を上げることが望まれている。

【0005】一方、更なるスポットの高密度化に向けて、微小スポットの形状制御性が良好であり、生産性に優れた新しい方法の開発に対する期待も大きい。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】ところで、基板上に、試料溶液の供給による微小スポットを形成する場合、予めカートリッジなどの調製用容器においてDNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製し、得られたPCR産物を乾燥してDNA粉末とし、得られたDNA粉末を緩衝液に溶かして試料溶液を調製するようにしている。

【0007】そして、供給装置に試料溶液を充填し、この供給装置を使用して基板上に試料溶液を供給して、基板上に微小スポットを形成するようにしている。

【0008】この場合、試料溶液を調製する工程と、試料溶液を供給する工程がそれぞれ別々になるため、工程間の管理が別途必要になると共に、試料溶液を保管するための設備が必要になり、また、試料溶液が大気中に触れる機会が多くなることから、試料溶液が変質するおそれがある。

【0009】また、カートリッジなどの調製用容器で試料溶液の調製をするため、調製後の試料溶液をピペットに移す際に、該試料溶液の一部がカートリッジに残存し、更に、ピペットを通じて供給装置に試料溶液を供給する際にも溶液の一部がピペット内に残存することとなり、試料溶液の利用効率の面でも不利になるという問題がある。

【0010】本発明はこのような課題を考慮してなされたものであり、試料溶液の品質を劣化させることなく、試料溶液の調製から供給処理まで一連の工程で行うことができ、しかも、試料溶液の利用率の向上、試料溶液の保管設備の省略化を実現でき、コストの低廉化、DNAチップの品質の向上を図ることができるDNAチップの製造方法を提供することを目的とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明は、試料溶液を基板上に多数供給してDNAチップを製造するDNAチップの製造方法において、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程と、溶液の供給装置内に前記DNA粉末を供給する工程と、前記供給装置内に緩衝液を供給して試料溶液を調製する工程とを有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とする。

【0012】即ち、この発明においては、DNA粉末と緩衝液を混合して試料溶液を調製する処理と試料溶液を前記基板上に供給する工程を同一の供給装置内で行うようにしている。こうすることにより、調製用容器中の試料溶液を粉末状で供給装置内に移動させるようにしたため、調製用容器内の容器壁等に付着する試料残留物の低

減ができると共に、試料移動用のピペット等を使用することもなく、該ピペットに残留、破棄される試料の発生も防げる。

【0013】また、本発明は、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、前記調製されたPCR産物を溶液の供給装置内に供給する工程と、前記供給装置内において前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程と、前記供給装置内に緩衝液を供給して試料溶液を調製する工程とを有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とする。

【0014】即ち、この発明においては、PCR産物を乾燥してDNA粉末を調製する処理と、DNA粉末と緩衝液を混合して試料溶液を調製する処理を同一の供給装置内で行うようにしている。

【0015】そのため、乾燥工程における試料の飛散等におけるロスを低減でき、もって試料溶液の利用効率を向上させることができる。更に、1つの供給装置内でDNA粉末の調製から供給処理までを行うため、試料溶液が大気に触ることはほとんどなく、試料溶液の変質を防止することができる。

【0016】更にまた、本発明は、溶液の供給装置内においてDNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、前記供給装置内において前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程と、前記供給装置内に緩衝液を供給して試料溶液を調製する工程とを有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とする。

【0017】即ち、本発明においては、PCR増幅から供給処理までの一連の工程を同一の供給装置内で行うようにしている。そのため、試料溶液の品質を劣化させることなく、試料溶液の調製から供給処理までを一連の工程で行うことができ、しかも、試料溶液の保管設備の省略化を実現でき、コストの低廉化、DNAチップの品質向上を図ることができる。

【0018】また、試料溶液を他の容器に移す工程を行う必要がないため、試料溶液の利用率を更に向上させることができる。更に、1つの供給装置内で、DNA増幅から供給処理までを行うため、試料溶液が大気に触ることはほとんどなく、試料溶液の変質を防止することができる。

【0019】更にまた、本発明は、溶液の供給装置内においてDNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程を有し、前記供給装置を使用して該供給装置内の前記調製後試料溶液を前記基板上に供給してDNAチップを製造することを特徴とする。

【0020】即ち、前記供給装置内において、PCR増幅して得られたPCR産物を直接基板上に供給する。

【0021】こうすることにより、上述した発明の各作

用・効果に加えて、容器内の試料溶液の調製工程が簡素化され、短時間で効率的にDNAチップを製造することができる。なお、前記供給装置内のPCR産物を含んだ溶液中に、増幅時に作用した試薬で、DNAチップ作製後のハイブリダイゼーション作用を阻害する成分がある場合は、その作用を中和する試薬を注入してもよい。

【0022】そして、前記試料溶液をインクジェット方式で供給することが好ましい。この場合、前記供給装置は、少なくとも1個以上の基体に、外部から前記試料溶液を注入するための注入口と、前記試料溶液が注入・充填されるキャビティと、前記試料溶液を吐出する吐出口とが形成され、前記キャビティを形成する前記基体の少なくとも一壁面に圧電/電歪素子を備え、前記キャビティ内において前記試料溶液が移動するように構成されたマイクロピペットが複数配列されて構成され、かつ、各マイクロピペットの吐出口からそれぞれ異なる種類の試料溶液が吐出される分注装置であることが好ましい。

【0023】これにより、それぞれ種類の異なるPCR産物を乾燥させたDNA粉末、あるいはそれぞれ種類の異なるPCR産物、あるいはPCR増幅する前の元のDNAと、DNA粉末を溶解させる緩衝液、あるいはPCR増幅試薬（プライマー、酵素、PCR緩衝液、dTTP、蒸留水等）等を前記注入口から前記複数のキャビティ内に注入し、場合によっては、注入部分でPCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する工程を経て、試料溶液を調製した後、前記圧電/電歪素子を駆動させることにより、前記複数のキャビティ内の異なる種類の試料溶液を前記吐出口から吐出させて、DNAチップを製造することができる。

【0024】このように、供給装置内の試料が溜まる部分の容積が数～数10μリットル程度ある前記インクジェット方式の供給装置は、供給装置内での試料溶液の調製、増幅、精製、作製等に適しており、供給装置の本来の作用である基板上へのスポット形成に加え、そのような作用を合わせ持つことが可能になり、非常に効率のよいDNAチップ製造が可能になる。更に後述するように、供給装置自体をガラス、プラスチック等よりも熱伝導率のよいセラミックスで構成すると、サーマルサイクルを行うPCR増幅に好適である。

【0025】そして、前記複数のキャビティ内における前記試料溶液の調製完了を、前記キャビティ内の流体特性の変化を検知することにより把握するようにしてよい。前記キャビティを形成する前記基体の少なくとも一壁面に形成された圧電/電歪素子は、キャビティ内の液体の物性を検知するセンサとして作用し、これにより、前記調製完了を精度よく検出することができる。

【0026】

【発明の実施の形態】以下、本発明に係るDNAチップの製造方法の実施の形態例を図1～図9を参照しながら説明する。

【0027】本実施の形態に係るDNAチップの製造方法においては、図1A～図1C及び図2に示すような分注装置30を使用する。

【0028】この分注装置30は、矩形状の固定板32の上面に例えば10個のマイクロピペット34を5行2列に配列し、各列方向に整列されたマイクロピペット34群をそれぞれ固定治具36を介して固定板32に固定させた構成を有する。

【0029】マイクロピペット34は、図1C及び図2に示すように、ほぼ直方体の形状を有する基体50の上面に形成された試料注入口52と、該基体50の下面に形成された試料吐出口54と、内部に試料注入口52と試料吐出口54との間に形成されたキャビティ56と、基体50を振動させたり、キャビティ56の体積を変化させたりするアクチュエータ部58とを有して構成されている。

【0030】従って、図2に示すように、前記固定板32には、マイクロピペット34の試料吐出口54に対応する箇所にそれぞれ貫通孔40が設けられている。これにより、マイクロピペット34の試料吐出口54から吐出された試料溶液が、前記貫通孔40を通じて、例えば固定板32の下方に固定された基板10に供給されることになる。

【0031】このマイクロピペット34は、試料注入口52から基体50の内部にかけて開口幅の大きいほぼL字状の導入穴60が形成されている。この導入穴60とキャビティ56との間には、径の小さい第1の連通孔62が形成され、試料注入口52から注入された液体が導入穴6.0及び第1の連通孔62を通じてキャビティ56に導入されるようになっている。

【0032】キャビティ56のうち、前記第1の連通孔62とは異なる位置に、試料吐出口54に連通し、かつ、第1の連通孔62よりも径の大きい第2の連通孔64が形成されている。本実施の形態では、キャビティ56の下面のうち、試料注入口52寄りに第1の連通孔62を形成し、同じくキャビティ56の下面のうち、試料吐出口54に対応した位置に第2の連通孔64を形成するようしている。

【0033】更に、この実施の形態では、基体50のうち、キャビティ56の上面が接する部分が薄肉とされ、外部応力に対して振動を受けやすい構造となっており、振動部66として機能するようになっている。振動部66の上面に前記アクチュエータ部58が形成されている。

【0034】基体50は、複数枚のジルコニアセラミックスのグリーンシート（第1の薄板層50A、第1のスペーサ層50B、第2の薄板層50C、第2のスペーサ層50D、第3のスペーサ層50E及び第3の薄板層50F）を積層し、一体焼成して構成されている。

【0035】つまり、基体50は、試料注入口52を構

成する窓部が形成され、一部において振動部66を構成する薄肉の第1の薄板層50Aと、導入穴60の一部及びキャビティ56を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された厚肉の第1のスペーサ層50Bと、導入穴60の一部、第1の連通孔62及び第2の連通孔64の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された薄肉の第2の薄板層50Cと、導入穴60の一部及び第2の連通孔64の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された厚肉の第2のスペーサ層50Dと、第2の連通孔64の一部を構成する窓部が形成された厚肉の第3のスペーサ層50Eと、試料吐出口54を構成する窓部が形成された薄肉の第3の薄板層50Fとを積層し、一体焼成して構成されている。

【0036】アクチュエータ部58は、前記振動部66のほか、該振動部66上に直接形成された下部電極70と、該下部電極70上に形成された圧電／電歪層や反強誘電体層等の圧電層72と、該圧電層72の上面に形成された上部電極74とを有して構成されている。

【0037】下部電極70と上部電極74は、図1Cに示すように、それぞれ基体50の上面に形成された複数のパッド76及び78を通じて図示しない駆動回路に電気的に接続される。

【0038】上記のような構成のマイクロピペット34によれば、上部電極74と下部電極70との間に電界が生じると、圧電層72が変形し、それに伴って振動部66が変形し、振動部66に接しているキャビティ（加圧室）56の容積が減少又は増加することになる。

【0039】このキャビティ56の容積の減少によってキャビティ56内に充填された試料溶液がキャビティ56に連通する試料吐出口54から所定速度で吐出され、図5に示すように、マイクロピペット34から吐出された試料溶液が顕微鏡スライドガラス等の基板10上に微小スポット80として整列固定されたDNAチップ20を作製することができる。また、このキャビティ56の容積増加によって、キャビティ56内に第1の連通孔62から新たな試料溶液が注入、充填され、次の吐出に備えられる。

【0040】なお、アクチュエータ部58の駆動によって、キャビティ56の容積が減少する構造としては、いわゆるインクジェット方式の装置構造を採用することができる（特開平6-40030号公報参照）。

【0041】そして、キャビティ（加圧室）56は、DNA断片などを含む試料溶液が乱れが少なく移動するような流路寸法に形成されている。

【0042】つまり、キャビティ56の寸法は、試料の種類、作成する液滴の大きさ、形成密度より異なるが、例えば、塩基対1～10000程度のDNA断片を100μg/μリットル以下の濃度で×1TEバッファ溶液（緩衝液）に溶解させ、更に、等量のポリマーを含んだ水溶液と混合させた試料を50～600μmピッチで3

0～500μmの液滴径の供給を行う場合においては、図3に示すように、キャビティ長（L）は、1～5mm、キャビティ幅（W）は、0.1～1mm、キャビティ深さ（D）は、0.1～0.5mmが好ましい。またキャビティ56の内壁には、流れを乱す突起物がないように滑らかであることがよく、その材質は、試料溶液と親和性のよいセラミックスからなることが好ましい。

【0043】このような形状にすることにより、キャビティ56を試料注入口52から試料吐出口54に至る流路の一部として、試料注入口52から導入穴60、第1の連通孔62を経てキャビティ56内に移動する試料溶液の流れを乱すことなく試料吐出口54に導くことができる。

【0044】なお、基体50は、前述したように、ジルコニアセラミックスの一体積層、焼成体であるほかに、アクチュエータ部58を形成したジルコニアセラミック焼結体と金属、樹脂フィルム等との接着体であってもよい。特に、試料吐出口54を形成した薄板層50Fは、その加工法とのマッチングを考慮して、PETフィルム等の有機樹脂をエキシマレーザ等で加工したシート、あるいはステンレスフィルム等の金属を金型等で打ち抜いたシートであることが好ましい。

【0045】また、試料吐出口54と第1の連通孔62の寸法は、吐出する試料溶液の物性、吐出量、吐出速度等によって最適設計されるが、10～100μm程度であるとよい。

【0046】ところで、図1Aに示すように、固定板32の上面には、マイクロピペット34を位置決め固定するための複数のピン38が設けられている。マイクロピペット34を固定板32上に固定する場合は、マイクロピペット34の基体50の両側に設けられた位置決め用孔90（図1C参照）に固定板32のピン38を挿入させながら、マイクロピペット34を固定板32に載置することで、自動的に複数のマイクロピペット34が所定の並びで配列位置決めされることになる。

【0047】また、各固定治具36は、複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付ける押さえ板100を有する。押さえ板100の両端には、それぞれネジ102が挿通される挿通孔が形成され、この挿通孔にネジ102を挿通して、固定板32にねじ込むことによって、前記押さえ板100で一度に複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付けることができるようになっている。そして、1つの押さえ板100で押さえ付けた複数のマイクロピペット34で1つのユニットが構成される。図1Aの例では列方向に配列された5つのマイクロピペット34で1つのユニットが構成された例を示している。

【0048】また、押さえ板100には、複数のマイクロピペット34を押さえ付けたときに、各マイクロピペット34の試料注入口52に対応する箇所にそれぞれ試

料溶液を供給するための導入孔104(図1B参照)が形成されており、各導入孔104の上端部にはそれぞれ試料溶液を導入孔104に導くためのチューブ106が保持されている。

【0049】なお、押さえ板100の幅は、配線作業の効率化を考慮すると、複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付けた際に、アクチュエータ部58の各電極70及び74につながるパッド76及び78が上方に臨むような寸法であることが好ましい。

【0050】このように、上述の分注装置30は、試料注入口52及び試料吐出口54を有するマイクロピペット34の複数個をそれぞれ試料吐出口54を下方向に向けた状態で立設させて構成されている。

【0051】即ち、各マイクロピペット34は、それぞれの試料注入口52を上側とし、試料吐出口54を下側とし、かつ、各試料吐出口54が縦横に配列配置されて、試料吐出口54からそれぞれ種類の異なる試料溶液が吐出されるようになっている。

【0052】このような構成を有する分注装置30において、各試料注入口52に対応してそれぞれ種類の異なる試料溶液を供給する方法としては、図4に示すように、例えば多数の断面ほぼV字状の凹部(溜め部)110が配列されたカートリッジ112を使用する方法がある。この方法は、カートリッジ112の各凹部110にそれぞれ種類の異なる試料溶液を入れ、該カートリッジ112を各凹部110とチューブ106とがそれぞれ対応するように取り付け、針等で各凹部110の底を開封することによって、各凹部110内の試料溶液をチューブ106を介して各マイクロピペット34に供給する方法等が考えられる。

【0053】また、チューブ106を用いない場合は、カートリッジ112を各凹部110と固定治具36の各導入孔104とがそれぞれ対応するように取り付け、針等で各凹部110の底を開封することによって、各凹部110内の試料溶液を導入孔104を介して各マイクロピペット34に供給する方法のほか、予め、固定治具36における各導入孔104の近傍に針等を形成し、カートリッジ112を固定治具36に取り付けると同時に各凹部110が開封されるようにしてもよい。

【0054】なお、開封後に気体等を圧送し、試料溶液を強制的に押し出す機構を加えてもよい。また、各マイクロピペット34の基体50内に形成された試料注入口52から試料吐出口54に至る空間を洗浄する機構を備えることは、数千から数万種類という多種類のDNA断片などを汚染なく、しかも純度よく微小スポット80として吐出するために望ましい。

【0055】図1Aの例では、押さえ板100の両端をネジ102で固定板20に締め付けることで行っているが、押さえ板100の固定法としては、ネジ、バネ等で機械的に行うほか、接着剤等で行ってもよい。

【0056】また、マイクロピペット34を構成する基体50は、上述したように、セラミックスで形成されており、例えば、安定化ジルコニアや部分安定化ジルコニア、アルミナ、マグネシア、窒化珪素等を用いることができる。

【0057】このうち、安定化／部分安定化ジルコニアは、薄板においても機械的強度が大きいこと、韌性が高いこと、圧電層72や電極材との反応性が小さいことから最も好適に採用される。

10 【0058】そして、基体50等の材料として安定化／部分安定化ジルコニアを使用する場合には、少なくとも、アクチュエータ部58が形成される部分(振動部66)には、アルミナあるいはチタニア等の添加物が含有されることが好ましい。

【0059】また、アクチュエータ部58を構成する圧電層72は、圧電セラミックスとして、例えば、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛、マグネシウムニオブ酸鉛、マグネシウムタンタル酸鉛、ニッケルニオブ酸鉛、亜鉛ニオブ酸鉛、マンガンニオブ酸鉛、アンチモンスズ酸鉛、マンガンタングステン酸鉛、コバルトニオブ酸鉛、チタン酸バリウム等やこれらのいずれかを組み合わせた成分を含有する複合セラミックスを用いることができるが、本実施の形態においては、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる成分を主成分とする材料が好適に用いられる。

【0060】これは、このような材料が、高い電気機械結合係数と圧電定数を有することに加え、圧電層72の焼結時における基体材料との反応性が小さく、所定の組成のものを安定に形成することができることに基づくからである。

【0061】更に、本実施の形態では、前記圧電セラミックスに、ランタン、カルシウム、ストロンチウム、モリブデン、タングステン、バリウム、ニオブ、亜鉛、ニッケル、マンガン、セリウム、カドミウム、クロム、コバルト、アンチモン、鉄、イットリウム、タンタル、リチウム、ビスマス、スズ等の酸化物、もしくはこれらいずれかの組合せ、又は他の化合物を適宜、添加したセラミックスを用いてもよい。

40 【0062】例えば、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛を主成分とし、これにランタンやストロンチウムを含有するセラミックスを用いることもまた好ましい。

【0063】一方、アクチュエータ部58における上部電極74及び下部電極70は、室温において、固体であって、かつ、導電性の金属で構成されていることが好ましく、例えば、アルミニウム、チタン、クロム、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ニオブ、モリブデン、ルテニウム、パラジウム、ロジウム、銀、スズ、タンタル、タングステン、イリジウム、白金、金、鉛等の金属単体あるいはこれらのいずれかを組み合わせた合金が用

11

いられ、更に、これらに圧電層72や基体50と同じ材料を分散させたサーメット材料を用いてもよい。

【0064】次に、この分注装置30を使った本実施の形態に係るDNAチップの製造方法について図6～図9を参照しながら説明する。

【0065】まず、第1の実施の形態に係る製造方法は、図6に示すように、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する。その後、前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する。その後、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の挿入孔104を介して各マイクロピペット34の試料注入口52にDNA粉末を充填し、次いで、緩衝液を試料注入口52からキャビティ56内に注入し、試料溶液を調製する。その後、アクチュエータ部58に対して振動を励起する程度の電圧を印加して、キャビティ56内に充填されている液体を攪拌混合して試料溶液を調製してもよい。そして、キャビティ56内において試料溶液の調製が完成した後、アクチュエータ部58を駆動させて、試料溶液を基板10上に吐出供給させる。

【0066】次に、第2の実施の形態に係る製造方法は、図7に示すように、まず、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する。その後、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロピペット34の試料注入口からキャビティ56内にPCR産物を充填する。

【0067】その後、基体50をDNAが変性しない程度の温度で加熱して、PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する。その後、緩衝液を試料注入口52からキャビティ56内に注入し、試料溶液を調製する。その後、アクチュエータ部58に対して振動を励起する程度の電圧を印加して、キャビティ56内に充填されている液体を攪拌混合して試料溶液を調製してもよい。そして、キャビティ56内において試料溶液の調製が完成した後、アクチュエータ部58を駆動させて、試料溶液を基板10上に吐出供給させる。

【0068】次に、第3の実施の形態に係る製造方法は、図8に示すように、まず、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロピペット34の試料注入口52にDNA断片を充填し、次いで、PCR増幅試薬（プライマー、酵素、PCR緩衝液、dNTP、蒸留水等）を試料注入口52からキャビティ56内に注入する。その後、基体50の加熱冷却を繰り返し、キャビティ56内においてPCR増幅を行う。

【0069】その後、基体50をDNAが変性しない程度の温度で加熱してPCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する。その後、緩衝液を試料注入口52からキャビティ56内に注入し、試料溶液を調製する。その後、アクチュエータ部58に対して振動を励起する程度の電圧を印加して、キャビティ56内に充填されている液体

12

を攪拌混合して試料溶液を調製してもよい。そして、キャビティ56内において試料溶液の調製が完成した後、アクチュエータ部58を駆動させて、試料溶液を基板10上に吐出供給させる。

【0070】次に、第4の実施の形態に係る製造方法は、図9に示すように、まず、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロピペット34の試料注入口52にDNA断片を充填し、次いで、PCR増幅試薬（プライマー、酵素、PCR緩衝液、dNTP、蒸留水等）を試料注入口52からキャビティ56内に注入する。その後、基体50の加熱冷却を繰り返し、キャビティ56内においてPCR増幅を行う。その後、アクチュエータ部58を駆動させて、試料溶液を基板10上に吐出供給させる。

【0071】ここで、キャビティ56内の加熱方法としては、ヒータ等を用いて固定板32ごと加熱してもよいし、レーザ光、赤外線、電磁波等を用いて基板50を加熱してもよい。また、キャビティ56内の冷却方法としては、空冷式あるいは水冷式の冷却板を固定板32に接触させて冷却してもよいし、代替フロンや液体窒素等からなる冷却剤を基体50に吹きかけてもよい。

【0072】また、図8に示す第3の実施の形態に係る製造方法において、PCR産物の不純物濃度を低減させて、DNAチップの品質を向上させることを目的に、キャビティ56内でのPCR増幅後に、イソプロパノール沈殿等を行い、目的とするDNAの濃縮を行ってもよい。

【0073】なお、イソプロパノール沈殿方法としては、まず、イソプロピルアルコールを試料注入口52からキャビティ56内に注入する。その後、アクチュエータ部58に対して振動を励起する程度の電圧を印加して、キャビティ56内に充填されている液体を攪拌混合する。その後、20分程度放置する。その後、各チューブ106及び貫通孔40をテープ等で封止し、分注装置30ごと遠心機にかけ、目的DNAを沈殿させる。その後、チューブ106からピペット等を用いて溶液を抜き取ることにより、目的DNAの濃縮を行うことが好ましい。

【0074】ところで、キャビティ56内におけるPCR増幅の完了や試料溶液の調製完了は、キャビティ56内の流体特性の変化を検知することにより把握することが好ましい。

【0075】ここで、キャビティ56内の流体特性の変化は、アクチュエータ部58に振動を励起する程度の電圧を印加し、その振動に伴う電気的定数の変化を検出することにより把握する。このような流体特性の変化の検知については、例えば、特開平8-201265号公報に開示されている。

【0076】具体的には、アクチュエータ部58に対して、所定の間隔で、吐出駆動用の電源からの電気的接続

50

をリレーで切り離し、同時に、共振周波数を測定する手段をリレーにより接続し、その時点でのインピーダンスあるいは共振周波数を電気的に測定する。

【0077】これにより、液体の粘度、比重等が目的の試料（DNA断片などを含む液体）であるかどうかを把握することができる。即ち、各マイクロピペット34においては、マイクロピペット34自体がセンサとして機能するため、マイクロピペット34の構成も単純化することができる。

【0078】そして、アクチュエータ部58を、求められるスポット径に応じた液適量に対応した駆動条件にて駆動し、試料溶液の供給を繰り返すことにより、DNAチップ20を製造する。通常、1つの微小スポット80を形成するのに、マイクロピペット34から1～数百滴を吐出して行う。

【0079】なお、試料注入口52中の試料の量が減少した際には、緩衝液や精製水や塩化ナトリウムを含む水溶液を追加して、流路中に気泡が入らないようにし、吐出を続けることにより、試料溶液をマイクロピペット34内に残すことなく使い切ることができる。試料から置換液への置換の完了（試料吐出の終了）は、同じく、アクチュエータ部58を用いた液体の粘度、比重の検出で行う。

【0080】ここで、キャビティ56内の置換液と試料溶液の置換は層流で行われることが好ましいが、試料溶液の種類が変わった場合や、液体の移動速度が非常に速い場合においては、キャビティ56のうち、第1の連通孔62の近辺部分は、必ずしも層流でなくてもよい。この場合、試料と置換液の混合により、試料溶液のページ量は増大するが、キャビティ56内の流体特性の変化を検知することによって、置換完了を判断することにより、ページ量の増大を最小に抑えることができる。

【0081】また、使用する置換液、試料溶液としては、予め脱気操作を通して溶液中の溶存気体を取り除いたものを使用することが好ましい。そのような溶液を用いることにより、マイクロピペット34の流路内に溶液を充填する際に、流路途中で気泡がひっかかり充填が不備になる場合でも、その気泡を溶液中に溶かし込んで不具合を回避できると共に、吐出の途中において、流体中に気泡が発生することがなく、吐出不具合を生じることもない。

【0082】このように、本実施の形態に係るDNAチップの製造方法においては、DNA粉末と緩衝液を混合して試料溶液を調製する処理、あるいはPCR産物を乾燥してDNA粉末を調製した後に緩衝液を混合して試料溶液を調製する処理、あるいはPCR增幅から試料溶液を調製するまでの処理を同一の分注装置30内で行うようしている。

【0083】そのため、試料溶液の品質を劣化させることなく、試料溶液の調製から供給処理まで、あるいはP

CR增幅から供給処理までを一連の工程で行うことができ、しかも、試料溶液の保管設備の省略化を実現でき、コストの低廉化、DNAチップの品質向上を図ることができる。また、試料溶液を他の容器に移す工程が不要となるため、試料溶液の利用率を向上させることができる。更に、1つの分注装置30内で試料溶液の調製から供給処理まで、あるいはPCR增幅から供給処理までを行うため、試料溶液が大気に触れることはほとんどなく、試料溶液の変質を防止することができる。

【0084】なお、この発明に係るDNAチップの製造方法は、上述の実施の形態に限らず、この発明の要旨を逸脱することなく、種々の構成を採り得ることはもちろんである。

【0085】

【発明の効果】以上説明したように、本発明に係るDNAの製造方法によれば、試料溶液の品質を劣化させることなく、試料溶液の調製から供給までの処理、あるいはPCR增幅から供給までの処理を一連の工程で行うことができ、しかも、試料溶液の利用率の向上、試料溶液の保管設備の省略化を実現でき、コストの低廉化、DNAチップの品質の向上を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1Aは本実施の形態に係るDNAチップの製造方法で使用される分注装置の構成を示す平面図であり、図1Bはその正面図であり、図1Cは、分注装置を構成する1つのマイクロピペットを示す拡大平面図である。

【図2】マイクロピペットの構成を示す縦断面図である。

【図3】マイクロピペットの基体内に形成されるキャビティを含む流路の形状を示す斜視図である。

【図4】カートリッジと共に示す分注装置の分解斜視図である。

【図5】製造されるDNAチップを示す斜視図である。

【図6】第1の実施の形態に係る製造方法を示す説明図である。

【図7】第2の実施の形態に係る製造方法を示す説明図である。

【図8】第3の実施の形態に係る製造方法を示す説明図である。

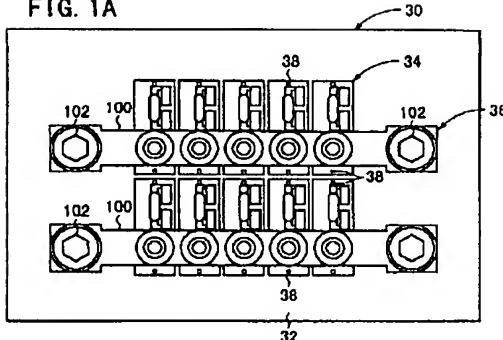
【図9】第4の実施の形態に係る製造方法を示す説明図である。

【符号の説明】

10…基板	20…DNAチップ
30…分注装置	34…マイクロピペット
50…基体	52…試料注入口
54…試料吐出口	56…キャビティ
58…アクチュエータ部	80…微小スポット

【図1】

FIG. 1A



【図2】

FIG. 2

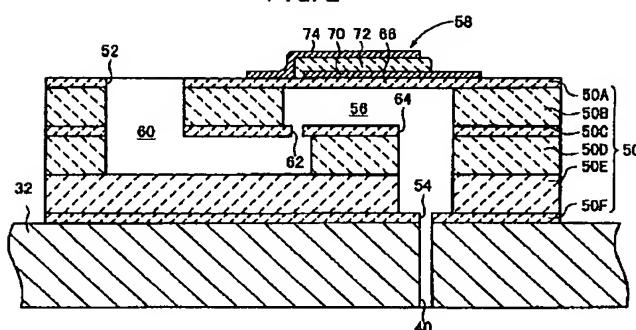
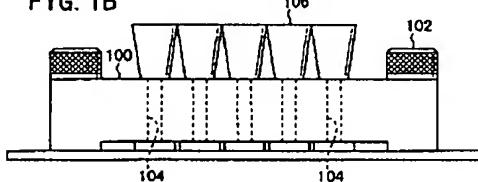


FIG. 1B



【図4】

FIG. 4

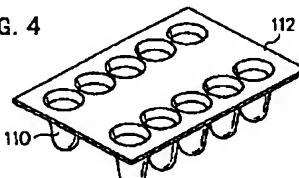
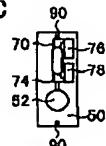
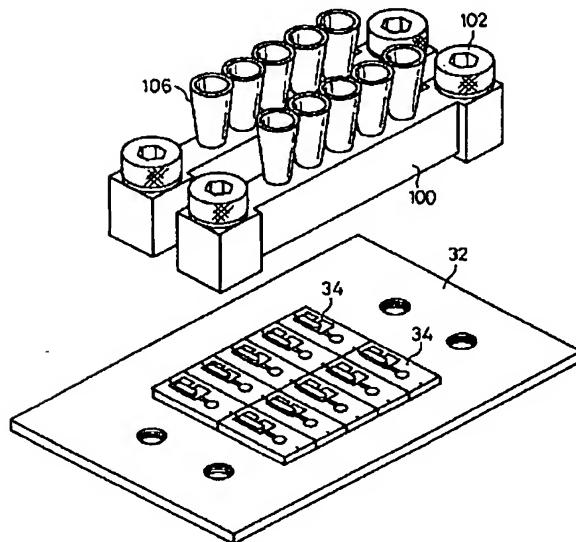
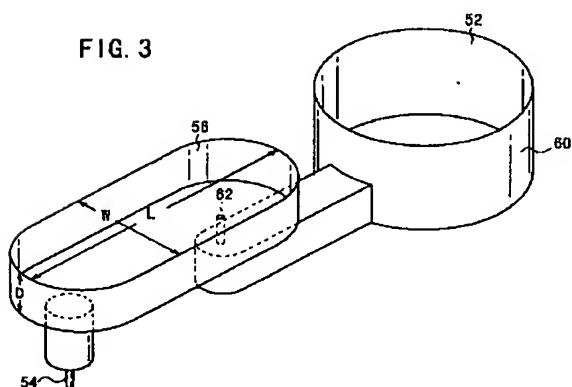


FIG. 1C



【図3】

FIG. 3



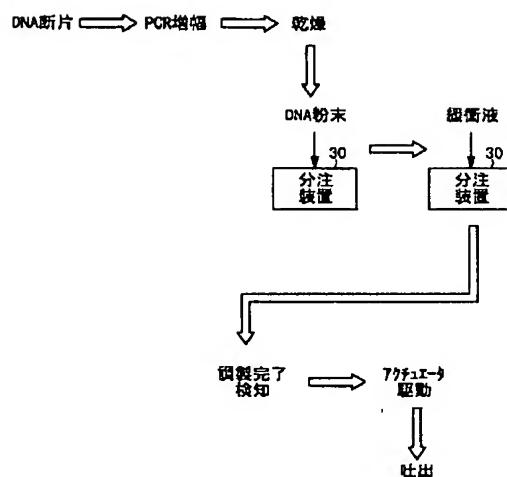
【図5】

FIG. 5



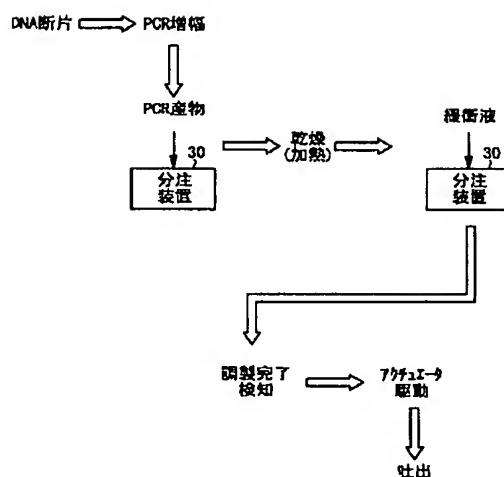
【図6】

FIG. 6



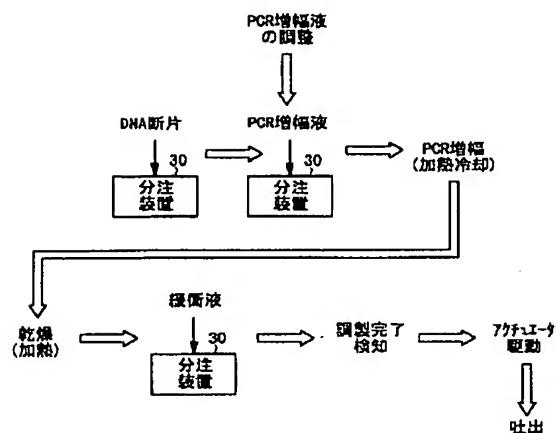
【図7】

FIG. 7



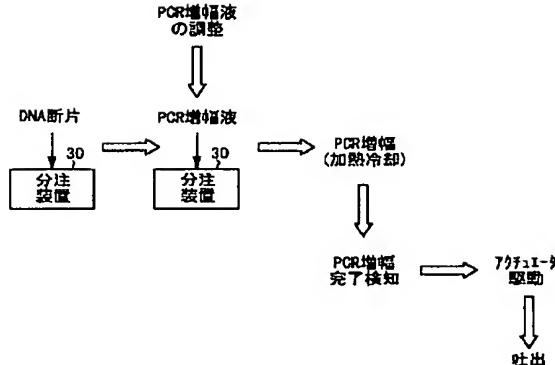
【図8】

FIG. 8



【図9】

FIG. 9



フロントページの続き

(51) Int.CI.⁷
 G 0 1 N 33/566
 35/02
 35/10

識別記号

F I
 G 0 1 N 35/02
 C 1 2 N 15/00
 G 0 1 N 35/06

テーマコード(参考)
 F
 A
 A

F ターム(参考) 2G058 AA09 CC09 EA11 ED16 ED20
4B024 AA11 AA19 CA01 HA11
4B029 AA07 AA23 AA27 CC02 CC08
FA15
4B033 NA45 NB02 NB13 NB25 ND08
ND11 NE01
4B063 QA01 QA11 QQ42 QR08 QR42
QR62 QR84 QS25 QS34 QS39

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成13年12月25日(2001.12.25)

【公開番号】特開2001-186881(P2001-186881A)

【公開日】平成13年7月10日(2001.7.10)

【年通号数】公開特許公報13-1869

【出願番号】特願2000-89979(P2000-89979)

【国際特許分類第7版】

C12N 15/09

C12M 1/00

C12N 11/16

C12Q 1/68

G01N 33/53

33/566

35/02

35/10

【F1】

C12N 15/00 A

C12M 1/00 A

C12N 11/16

C12Q 1/68 A

G01N 33/53 M

33/566

35/02 F

35/06 A

【手続補正書】

【提出日】平成13年8月6日(2001.8.6)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0030

【補正方法】変更

【補正内容】

【0030】図2に示すように、前記固定板32には、マイクロピペット34の試料吐出口54に対応する箇所にそれぞれ貫通孔40が設けられている。これにより、マイクロピペット34の試料吐出口54から吐出された試料溶液が、前記貫通孔40を通じて、例えば固定板32の下方に固定された基板10に供給されることになる。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0065

【補正方法】変更

【補正内容】

【0065】まず、第1の実施の形態に係る製造方法

は、図6に示すように、DNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する。その後、前記PCR産物を乾燥させてDNA粉末を調製する。その後、各チューブ106からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロピペット34の試料注入孔52にDNA粉末を充填し、次いで、緩衝液を試料注入孔52からキャビティ56内に注入し、試料溶液を調製する。その後、アクチュエータ部58に対して振動を励起する程度の電圧を印加して、キャビティ56内に充填されている液体を攪拌混合して試料溶液を調製してもよい。そして、キャビティ56において試料溶液の調製が完成した後、アクチュエータ部58を駆動させて、試料溶液を基板10上に吐出供給させる。

【手続補正3】

【補正対象書類名】図面

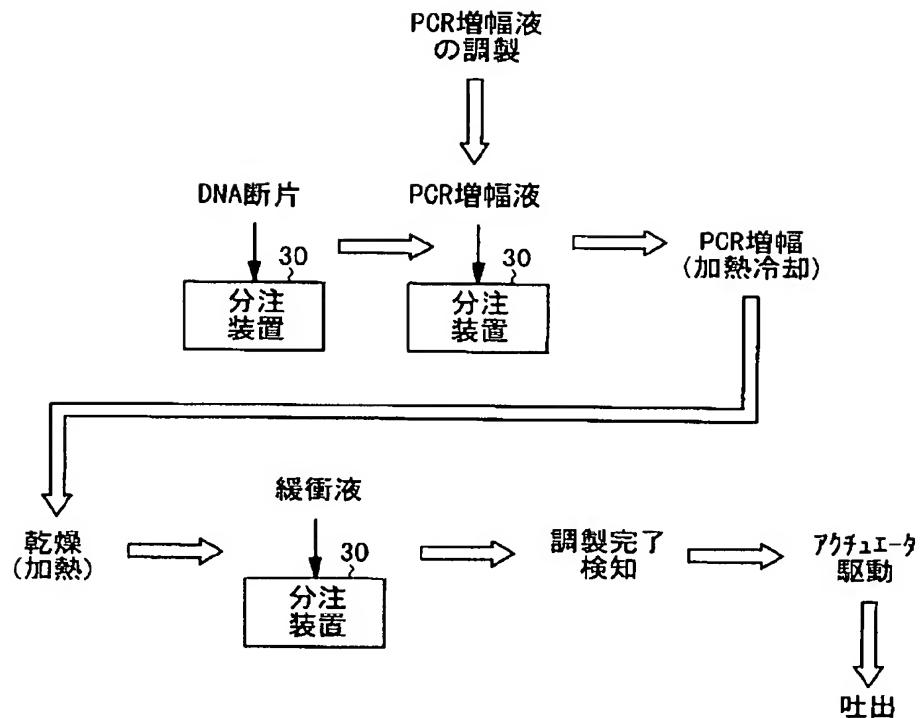
【補正対象項目名】図8

【補正方法】変更

【補正内容】

【図8】

FIG. 8



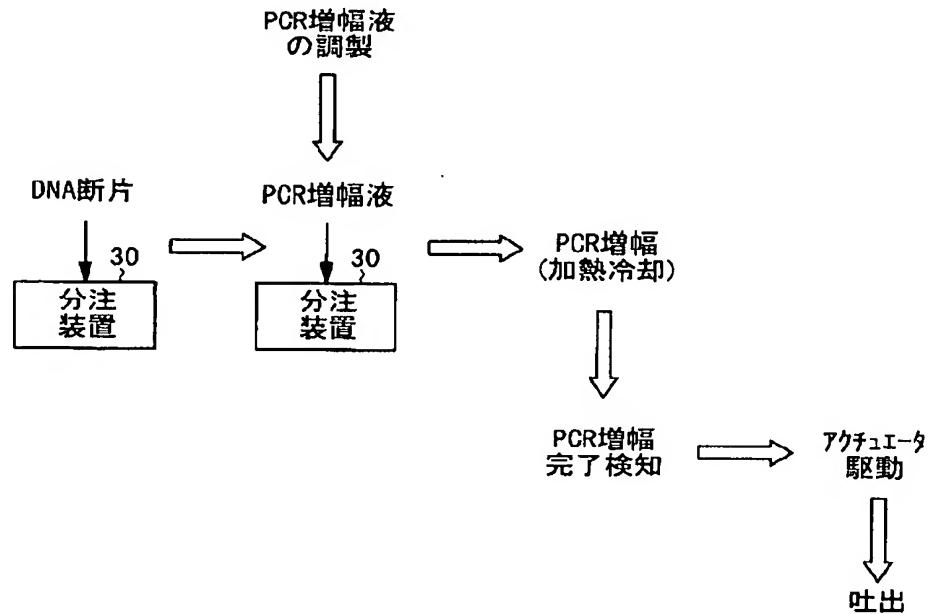
【手続補正4】
 【補正対象書類名】図面
 【補正対象項目名】図9

* 【補正方法】変更

【補正内容】

* 【図9】

FIG. 9



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-186881

(43)Date of publication of application : 10.07.2001

(51)Int.Cl.

C12N 15/09
C12M 1/00
C12N 11/16
C12Q 1/68
G01N 33/53
G01N 33/566
G01N 35/02
G01N 35/10

(21)Application number : 2000-089979

(71)Applicant : NGK INSULATORS LTD

(22)Date of filing : 28.03.2000

(72)Inventor : HIROTA JUICHI

NORITAKE MOTO

(30)Priority

Priority number : 11301627 Priority date : 22.10.1999 Priority country : JP

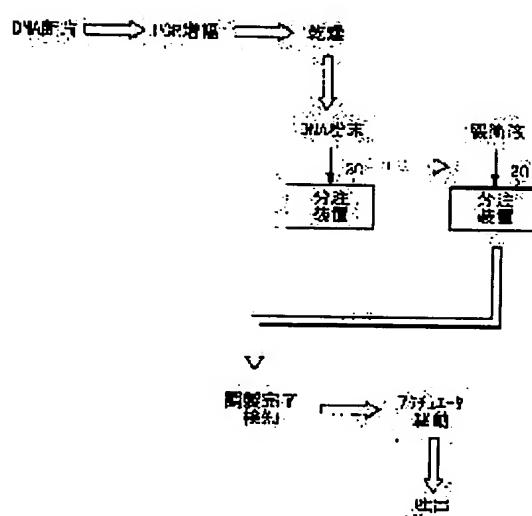
(54) METHOD FOR PRODUCING DNA CHIP

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for producing a DNA chip capable of performing treatments from the preparation of a specimen solution to its supply, or treatments from a PCR amplification to the supply in a series of processes without deteriorating the quality of the specimen solution and also capable of realizing the improvement of utilization efficiency of the specimen solution and the omission of storing facility of the specimen solution, and aiming at the reduction of its cost and the improvement of the quality of the DNA chip.

SOLUTION: This method for producing the DNA chip is provided by performing a PCR amplification of DNA fragments to prepare a PCR product, then drying the above PCR product to prepare DNA powder, filling the DNA powder into a specimen-injecting port of each of micro-pipettes in a separately injecting device 30, injecting a buffer liquid from the specimen-injecting port into a cavity to prepare a specimen solution, supplying and ejecting the specimen solution on a base substrate by driving an actuator part after completing the preparation of the specimen solution in the cavity.

FIG. 6



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 06.08.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 20.12.2005

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

*** NOTICES ***

JPO and INPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] In the manufacture approach of the DNA chip which supplies much sample solutions on a substrate and manufactures a DNA chip The process which carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product, and the process which is made to dry said PCR product and prepares DNA powder, It has the process which supplies said DNA powder in the feeder of a solution, and the process which supplies the buffer solution in said feeder and prepares the sample solution. The manufacture approach of the DNA chip characterized by supplying said sample solution in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip.

[Claim 2] In the manufacture approach of the DNA chip which supplies much sample solutions on a substrate and manufactures a DNA chip The process which carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product, and the process which supplies said prepared PCR product in the feeder of a solution, The process which is made to dry said PCR product and prepares DNA powder in said feeder, The manufacture approach of the DNA chip characterized by having the process which supplies the buffer solution in said feeder and prepares the sample solution, supplying said sample solution in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip.

[Claim 3] In the manufacture approach of the DNA chip which supplies much sample solutions on a substrate and manufactures a DNA chip The process which carries out PCR magnification of the DNA fragment into the feeder of a solution, and prepares an PCR product, The process which is made to dry said PCR product and prepares DNA powder in said feeder, The manufacture approach of the DNA chip characterized by having the process which supplies the buffer solution in said feeder and prepares the sample solution, supplying said sample solution in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip.

[Claim 4] The manufacture approach of the DNA chip characterized by having the process which carries out PCR magnification of the DNA fragment into the feeder of a solution, and prepares an PCR product in the manufacture approach of the DNA chip which supplies much sample solutions on a substrate and manufactures a DNA chip, supplying the sample solution after said preparation in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip.

[Claim 5] The manufacture approach of the DNA chip characterized by supplying said sample solution by the ink jet method in the manufacture approach of a DNA chip given in any 1 term of claims 1-4.

[Claim 6] In the manufacture approach of a DNA chip given in any 1 term of claims 1-5 said feeder The inlet for pouring said sample solution into at least one or more bases from the exterior, The cavity with which said sample solution is poured in and filled up, and the delivery which carries out the regurgitation of said sample solution are formed. At least 1 wall surface of said base which forms said cavity is equipped with piezo-electricity / electrostriction component. The manufacture approach of the DNA chip characterized by being distributive-pouring equipment with which the sample solution of a class which two or more arrays of the micropipette constituted so that said sample solution might move into said cavity are carried out, and is constituted, and is different from the delivery of each micropipette, respectively is breathed out.

[Claim 7] The manufacture approach of the DNA chip characterized by setting to the manufacture approach of a DNA chip according to claim 6, and grasping the completion of preparation of said sample solution in said two or more cavities by detecting change of the fluid characteristic in said cavity.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and INPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. *** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]**[0001]**

[Field of the Invention] This invention relates to the manufacture approach of the DNA chip (DNA microarray) which made high density carry out alignment immobilization of the DNA fragment of thousands to 10,000 or more kinds of different classes as a minute spot on substrates, such as a microscope slide glass.

[0002]

[Description of the Prior Art] There is a remarkable thing in an advance of the analysis approach of the gene structure in recent years, and gene structure of a large number including a human gene has been clarified. The DNA chip (DNA microarray) which carried out alignment immobilization is increasingly used for the analysis of such gene structure on substrates, such as a microscope slide glass, by using the DNA fragment of thousands to 10,000 or more kinds of different classes as a minute spot.

[0003] Generally manufacture of this DNA chip is performed by arranging two or more minute spots of the sample solution containing a DNA fragment on substrates, such as glass. As the formation approach of a minute spot, a QUILL method, a pin & ring method, Or even if it is the case where the method which supplies the sample solution containing a DNA fragment to the substrate top by the so-called pin called a solid pin method (placing) is used widely, and which approach is adopted The capacity of each minute spot and dispersion of a configuration are suppressed low, and it becomes important to keep the distance between each minute spot constant.

[0004] Moreover, although amplified and used for preparation of the sample solution containing a DNA fragment from DNA of very few origin to the volume which a spot takes using an PCR magnification process in many cases, the volume obtained by magnification is about number 10micro l., and since the reagent required for magnification is expensive, to gather the utilization ratio of the obtained liquid is desired.

[0005] On the other hand, the configuration controllability of a minute spot is good towards the densification of the further spot, and the expectation for development of the new approach excellent in productivity is also great.

[0006]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] By the way, when forming the minute spot by supply of the sample solution on a substrate, in containers for preparation, such as a cartridge, PCR magnification of the DNA fragment is carried out beforehand, and an PCR product is prepared, the acquired PCR product is dried, it considers as DNA powder, and he melts the obtained DNA powder to the buffer solution, and is trying to prepare the sample solution.

[0007] And a feeder is filled up with the sample solution, and he supplies the sample solution on a substrate using this feeder, and is trying to form a minute spot on a substrate.

[0008] In this case, since the process which prepares the sample solution, and the process which supplies the sample solution become separate, respectively and the opportunity for the facility for keeping the sample solution to be needed, and for the sample solution to touch into atmospheric air increases while management between processes is needed separately, there is a possibility that the sample solution may deteriorate.

[0009] Moreover, in order to prepare the sample solution with containers for preparation, such as a cartridge, in case the sample solution after preparation is moved to a pipet, this a part of sample solution remains in a cartridge, further, also in case the sample solution is supplied to a feeder through a pipet,

some solutions will remain in a pipet and there is a problem of becoming disadvantageous also in respect of the utilization effectiveness of the sample solution.

[0010] Without making this invention in consideration of such a technical problem, and degrading the quality of the sample solution, it can carry out at a series of processes from preparation of the sample solution to a provisioning process, and moreover, improvement in the utilization factor of the sample solution and simplification of the storage facility of the sample solution can be realized, and it aims at offering the manufacture approach of the DNA chip which can aim at improvement in the quality of cheap-izing of cost, and a DNA chip.

[0011]

[Means for Solving the Problem] In the manufacture approach of the DNA chip which this invention supplies much sample solutions on a substrate, and manufactures a DNA chip The process which carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product, and the process which is made to dry said PCR product and prepares DNA powder, It is characterized by having the process which supplies said DNA powder in the feeder of a solution, and the process which supplies the buffer solution in said feeder and prepares the sample solution, supplying said sample solution in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip.

[0012] That is, in this invention, it is made to perform the processing which mixes the buffer solution with DNA powder and prepares the sample solution, and the process which supplies the sample solution on said substrate within the same feeder. Generating of the sample which it remains to this pipet and is canceled can also be prevented without using the pipet for sample migration etc., while being able to perform reduction of the sample residue adhering to the vessel wall in the container for preparation etc., since it is powdered and was made to move the sample solution in the container for preparation into a feeder by carrying out like this.

[0013] Moreover, the process which this invention carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product, The process which supplies said prepared PCR product in the feeder of a solution, and the process which is made to dry said PCR product and prepares DNA powder in said feeder, It is characterized by having the process which supplies the buffer solution in said feeder and prepares the sample solution, supplying said sample solution in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip.

[0014] That is, in this invention, it is made to perform processing which dries an PCR product and prepares DNA powder, and processing which mixes the buffer solution with DNA powder and prepares the sample solution within the same feeder.

[0015] Therefore, the loss in scattering of the sample in a desiccation process etc. can be reduced, it can have, and the utilization effectiveness of the sample solution can be raised. Furthermore, since from preparation of DNA powder to a provisioning process is performed within one feeder, the sample solution hardly touches atmospheric air and it can prevent deterioration of the sample solution.

[0016] Furthermore, it is characterized by to have the process which this invention carries out PCR magnification of the DNA fragment into the feeder of a solution, and prepares an PCR product again, the process which is made to dry said PCR product and prepares DNA powder in said feeder, and the process which supplies the buffer solution in said feeder and prepares the sample solution, to supply said sample solution in this feeder on said substrate using said feeder, and to manufacture a DNA chip.

[0017] That is, in this invention, it is made to perform a series of processes from PCR magnification to a provisioning process within the same feeder. Therefore, without degrading the quality of the sample solution, from preparation of the sample solution to a provisioning process can be performed at a series of processes, moreover, simplification of the storage facility of the sample solution can be realized and upgrading of cheap-izing of cost and a DNA chip can be planned.

[0018] Moreover, since it is not necessary to perform the process which moves the sample solution to other containers, the utilization factor of the sample solution can be raised further. Furthermore, within one feeder, since from DNA magnification to a provisioning process is performed, the sample solution hardly touches atmospheric air and it can prevent deterioration of the sample solution.

[0019] Furthermore, this invention is characterized by having the process which carries out PCR magnification of the DNA fragment into the feeder of a solution, and prepares an PCR product, supplying the sample solution after said preparation in this feeder on said substrate using said feeder, and manufacturing a DNA chip again.

[0020] That is, the PCR product acquired by carrying out PCR magnification in said feeder is supplied on a direct substrate.

[0021] By carrying out like this, in addition to each operation and effectiveness of invention mentioned above, the preparation process of the sample solution in a container is simplified, and a DNA chip can be manufactured efficiently in a short time. In addition, when the component which checks the hybridization operation after DNA chip production is in a solution including the PCR product in said feeder with the reagent which acted at the time of magnification, the reagent which neutralizes the operation may be poured in.

[0022] And it is desirable to supply said sample solution by the ink jet method. In this case, an inlet for said feeder to pour said sample solution into at least one or more bases from the exterior, The cavity with which said sample solution is poured in and filled up, and the delivery which carries out the regurgitation of said sample solution are formed. At least 1 wall surface of said base which forms said cavity is equipped with piezo-electricity / electrostriction component. It is desirable that it is distributive-pouring equipment with which the sample solution of a class which two or more arrays of the micropipette constituted so that said sample solution might move into said cavity are carried out, and is constituted, and is different from the delivery of each micropipette, respectively is breathed out.

[0023] The DNA powder which dried by this the PCR product with which classes differ, respectively, the PCR product with which classes differ, respectively, or the original DNA before carrying out PCR magnification, the buffer solution in which DNA powder is dissolved, or an PCR magnification reagent (a primer --) It pours in into said two or more cavities from said inlet. an enzyme, the PCR buffer solution, dNTP, distilled water, etc. -- etc. -- depending on the case After preparing the sample solution through the process which is made to dry an PCR product in an inlet part, and prepares DNA powder, by making said piezo-electricity / electrostriction component drive, the sample solution of the class from which it differs in said two or more cavities can be made to be able to breathe out from said delivery, and a DNA chip can be manufactured.

[0024] thus, the volume of the part on which the sample in a feeder collects -- a number - a number -- about 10micro l. -- the feeder of said a certain ink jet method is suitable for preparation of the sample solution within a feeder, magnification, purification, production, etc., in addition to spot formation of a up to [the substrate which is an original operation of a feeder], it becomes possible to have such an operation, and dramatically efficient DNA chip manufacture is attained. Furthermore, if the ceramics with sufficient thermal conductivity constitutes the feeder itself from glass, plastics, etc. so that it may mention later, it is suitable for the PCR magnification which performs a thermal cycle.

[0025] And you may make it grasp the completion of preparation of said sample solution in said two or more cavities by detecting change of the fluid characteristic in said cavity. The piezo-electricity / electrostriction component formed in at least 1 wall surface of said base which forms said cavity can act as a sensor which detects the physical properties of the liquid in a cavity, and, thereby, can detect said completion of preparation with a sufficient precision.

[0026]

[Embodiment of the Invention] Hereafter, the example of a gestalt of implementation of the manufacture approach of the DNA chip concerning this invention is explained, referring to drawing 1 - drawing 9 .

[0027] In the manufacture approach of the DNA chip concerning the gestalt of this operation, distributive-pouring equipment 30 as shown in drawing 1 A - drawing 1 C and drawing 2 is used.

[0028] This distributive-pouring equipment 30 arranges ten micropipettes 34 in five-line two trains on the top face of the rectangle-like stationary plate 32, and has the configuration in which micropipette 34 group which aligned in each train direction was made to fix to a stationary plate 32 through a fixture 36, respectively.

[0029] As shown in drawing 1 C and drawing 2 , a micropipette 34 vibrates the sample inlet 52 formed in the top face of the base 50 which has the configuration of a rectangular parallelepiped mostly, the sample delivery 54 formed in the underside of this base 50, the cavity 56 formed between the sample inlet 52 and the sample delivery 54 inside, and a base 50, or has the actuator section 58 to which the volume of a cavity 56 is changed, and is constituted.

[0030] Therefore, as shown in drawing 2 , the breakthrough 40 is formed in the part corresponding to the sample delivery 54 of a micropipette 34 at said stationary plate 32, respectively. By this, the sample solution breathed out from the sample delivery 54 of a micropipette 34 will be supplied to the substrate 10 fixed under the stationary plate 32 through said breakthrough 40.

[0031] The introductory hole 60 of the shape of about L characters with large aperture width is formed applying this micropipette 34 to the interior of a base 50 from the sample inlet 52. Between this introductory hole 60 and cavity 56, the 1st free passage hole 62 with a small path is formed, and the

liquid poured in from the sample inlet 52 is introduced into a cavity 56 through the introductory hole 60 and the 1st free passage hole 62.

[0032] Among cavities 56, it is open for free passage to the sample delivery 54, and the 2nd free passage hole 64 with a larger path than the 1st free passage hole 62 is formed in a location which is different in said 1st free passage hole 62. He forms the 1st free passage hole 62 in sample inlet 52 approach among the undersides of a cavity 56, and is trying to form the 2nd free passage hole 64 in the location corresponding to the sample delivery 54 among the undersides of a cavity 56 similarly with the gestalt of this operation.

[0033] Furthermore, with the gestalt of this operation, the part which the top face of a cavity 56 touches among bases 50 is used as thin meat, and has the structure of being easy to receive an oscillation to external force, and it functions as the oscillating section 66. Said actuator section 58 is formed in the top face of the oscillating section 66.

[0034] A base 50 carries out the laminating of the green sheet (1st sheet metal layer 50A, 1st spacer layer 50B, 2nd sheet metal layer 50C, 2nd spacer layer 50D, 3rd spacer layer 50E, and 3rd sheet metal layer 50F) of the zirconia ceramics of two or more sheets, is really calcinated and is constituted.

[0035] That is, 1st sheet metal layer 50A of the thin meat with which the window part from which a base 50 constitutes the sample inlet 52 is formed, and constitutes the oscillating section 66 in a part, 1st heavy-gage spacer layer 50B in which two or more window parts which constitute the part and cavity 56 of the introductory hole 60 were formed, respectively, 2nd sheet metal layer 50C of the thin meat with which two or more window parts which constitute a part of a part of introductory hole 60, 1st free passage hole 62, and 2nd free passage hole 64 were formed, respectively, 2nd heavy-gage spacer layer 50D in which two or more window parts which constitute a part of introductory hole 60 and a part of 2nd free passage hole 64 were formed, respectively, The laminating of 3rd heavy-gage spacer layer 50E in which the window part which constitutes a part of 2nd free passage hole 64 was formed, and the 3rd sheet metal layer 50F of the thin meat with which the window part which constitutes the sample delivery 54 was formed is carried out, and it really calcinates and is constituted.

[0036] The actuator section 58 has the lower electrode 70 directly formed on this oscillating section 66 besides said oscillating section 66, the piezo-electric layers 72 formed on this lower electrode 70, such as piezo-electricity/electrostriction layer, and an antiferroelectric body whorl, and the up electrode 74 formed in the top face of this piezo-electric layer 72, and is constituted.

[0037] The lower electrode 70 and the up electrode 74 are electrically connected to the actuation circuit which is not illustrated through two or more pads 76 and 78 formed in the top face of a base 50, respectively, as shown in drawing 1 C.

[0038] According to the micropipette 34 of the above configurations, when electric field arise between the up electrode 74 and the lower electrode 70, the piezo-electric layer 72 will deform, the oscillating section 66 will deform in connection with it, and the volume of the cavity (pressurized room) 56 which is in contact with the oscillating section 66 will decrease or increase.

[0039] It is breathed out at a predetermined rate from the sample delivery 54 which the sample solution with which reduction of the volume of this cavity 56 was filled up in the cavity 56 opens for free passage to a cavity 56, and as shown in drawing 5, the sample solution breathed out from the micropipette 34 can produce DNA chip 20 by which alignment immobilization was carried out as a minute spot 80 on the substrates 10, such as microscope slide glass. Moreover, the increment in the volume of this cavity 56 is poured in and filled up with the new sample solution from the 1st free passage hole 62 in a cavity 56, and it prepares for the regurgitation of a degree.

[0040] In addition, as structure where the volume of a cavity 56 decreases, the so-called equipment structure of an ink jet method is employable with actuation of the actuator section 58 (refer to JP,6-40030,A).

[0041] And the sample solution in which a cavity (pressurized room) 56 contains a DNA fragment etc. is formed in a passage dimension which turbulence moves few.

[0042] That is, although the dimensions of a cavity 56 differ from the class of sample, the magnitude of the drop to create, and a formation consistency For example, an about one to 10000-base pair DNA fragment is dissolved in x1TE buffer solution (buffer solution) by the concentration below 100micro g/mu liter. Furthermore, the sample mixed with the water solution containing an equivalent polymer is set when supplying the diameter of 30-500 micrometerphi drop in 50-600-micrometer pitch. 1-5mm and the cavity width of face (W) of 0.1-0.5mm are [cavity length (L) / 0.1-1mm and the cavity depth (D)] desirable, as shown in drawing 3. Moreover, a smooth thing is good so that there may be no projection

which disturbs flow in the wall of a cavity 56, and as for the construction material, it is desirable to consist of ceramics with the sufficient sample solution and compatibility.

[0043] By making it such a configuration, it can lead to the sample delivery 54, without disturbing the flow of the sample solution which moves a cavity 56 into a cavity 56 through the introductory hole 60 from the sample inlet 52, and the 1st free passage hole 62 as a part of passage from the sample inlet 52 to the sample delivery 54.

[0044] In addition, bases 50 may be the zirconia ceramic sintered compact which it was the one laminating of zirconia ceramics, and a baking object as mentioned above, and also formed the actuator section 58, and an adapter with a metal, a resin film, etc. As for especially sheet metal layer 50F in which the sample delivery 54 was formed, it is desirable that it is the sheet which pierced metals, such as a sheet into which organic resin, such as a PET film, was processed by excimer laser etc., or a stainless steel film, with metal mold etc. in consideration of matching with the processing method.

[0045] Moreover, although optimal design of the dimension of the sample delivery 54 and the 1st free passage hole 62 is carried out by the physical properties of the sample solution which carries out the regurgitation, discharge quantity, the regurgitation rate, etc., it is good in it being 10-100 micrometerphi extent.

[0046] By the way, as shown in drawing 1 A, two or more pins 38 for carrying out positioning immobilization of the micropipette 34 are formed in the top face of a stationary plate 32. When it fixes a micropipette 34 on a stationary plate 32, making the pin 38 of a stationary plate 32 insert in the hole 90 (to refer to drawing 1 C) for positioning prepared in the both sides of the base 50 of a micropipette 34, it is laying a micropipette 34 in a stationary plate 32, and array positioning of two or more micropipettes 34 will be automatically carried out along predetermined.

[0047] Moreover, each fixture 36 has the presser-foot plate 100 which suppresses two or more micropipettes 34 to a stationary plate 32. Two or more micropipettes 34 can be suppressed now to a stationary plate 32 at once with said presser-foot plate 100 by forming in the ends of the presser-foot plate 100 the insertion hole in which a screw 102 is inserted, respectively, inserting a screw 102 in this insertion hole, and thrusting into a stationary plate 32. And one unit consists of two or more micropipettes 34 suppressed with one presser-foot plate 100. The example of drawing 1 A shows the example by which one unit was constituted from five micropipettes 34 arranged in the direction of a train.

[0048] Moreover, the introductory hole 104 (refer to drawing 1 B) for supplying the sample solution to the part corresponding to the sample inlet 52 of each micropipette 34, respectively, when two or more micropipettes 34 are suppressed is formed in the presser-foot plate 100, and the tube 106 for leading the sample solution to the introductory hole 104, respectively is held at the upper bed section of each introductory hole 104.

[0049] In addition, when the increase in efficiency of a wiring activity was taken into consideration and the width of face of the presser-foot plate 100 suppresses two or more micropipettes 34 to a stationary plate 32, it is desirable that it is the dimension which the pads 76 and 78 connected with each electrodes 70 and 74 of the actuator section 58 face up.

[0050] Thus, in the sample delivery 54, the plurality of the micropipette 34 which has the sample inlet 52 and the sample delivery 54 is made to set up in the condition of having turned downward, and above-mentioned distributive-pouring equipment 30 is constituted [plurality], respectively.

[0051] That is, each micropipette 34 makes each sample inlet 52 an upside, and the sample delivery 54 is made into the bottom, and array arrangement of each sample delivery 54 is carried out in all directions, and the sample solution from which a class differs from the sample delivery 54, respectively is breathed out.

[0052] In the distributive-pouring equipment 30 which has such a configuration, as an approach of supplying the sample solution from which a class differs corresponding to each sample inlet 52, respectively, as shown in drawing 4, there is the approach of using the cartridge 112 by which the crevice (reservoir section) 110 of the shape of much cross section of about V characters was arranged. This approach can consider how to supply the sample solution in each crevice 110 to each micropipette 34 through a tube 106 etc. by paying the sample solution from which a class differs, respectively to each crevice 110 of a cartridge 112, and opening the bottom of each crevice 110 with installation, a needle, etc. so that each crevice 110 and a tube 106 may correspond this cartridge 112, respectively.

[0053] Moreover, by opening the bottom of each crevice 110 with installation, a needle, etc. so that each crevice 110 and each introductory hole 104 of a fixture 36 may correspond a cartridge 112, respectively

when not using a tube 106 Others [approach / of supplying the sample solution in each crevice 110 to each micropipette 34 through the introductory hole 104], Beforehand, a needle etc. is formed near each introductory hole 104 in a fixture 36, and each crevice 110 may be made to be opened at the same time it attaches a cartridge 112 in a fixture 36.

[0054] In addition, a gas etc. may be fed after opening and the device which extrudes the sample solution compulsorily may be added. Moreover, having the device which washes the space from the sample inlet 52 formed in the base 50 of each micropipette 34 to the sample delivery 54 does not have contamination of the DNA fragment of the varieties of thousands to tens of thousands of kinds etc., and in order that purity may moreover improve the regurgitation as a minute spot 80, it is desirable.

[0055] Although binding tight to a stationary plate 20 with a screw 102 is performing the ends of the presser-foot plate 100 in the example of drawing 1 A, as a fixing method of the presser-foot plate 100, a screw, a spring, etc. perform mechanically, and also adhesives etc. may perform.

[0056] Moreover, as mentioned above, the base 50 which constitutes a micropipette 34 is formed with the ceramics, for example, fully stabilized zirconia, partially stabilized zirconia, an alumina, a magnesia, silicon nitride, etc. can be used for it.

[0057] Among these, stabilization/partially stabilized zirconia is most suitably adopted also in sheet metal from that a mechanical strength is large, that toughness is high, and reactivity with the piezo-electric layer 72 or electrode material being small.

[0058] And when using stabilization/partially stabilized zirconia as an ingredient of base 50 grade, into the part (oscillating section 66) at least in which the actuator section 58 is formed, it is desirable that additives, such as an alumina or a titania, contain.

[0059] Moreover, the piezo-electric layer 72 which constitutes the actuator section 58 As electrostrictive ceramics, for example, lead zirconate, lead titanate, magnesium lead niobate, Magnesium tantalic acid lead, nickel lead niobate, lead zinc niobate, Although the compound ceramics containing the component which combined manganese lead niobate, antimony lead stannate, manganese tungstic-acid lead, cobalt lead niobate, barium titanate, etc. and these either can be used In the gestalt of this operation, the ingredient which uses as a principal component the component which consists of lead zirconate, lead titanate, and magnesium lead niobate is used suitably.

[0060] It adds to such an ingredient having a high electromechanical coupling coefficient and a high piezoelectric constant, and this has small reactivity with the base ingredient at the time of sintering of the piezo-electric layer 72, and is because it is based on the ability of the thing of a predetermined presentation to be formed in stability.

[0061] Furthermore, with the gestalt of this operation, the ceramics which added suitably oxides, such as a lanthanum, calcium, strontium, molybdenum, a tungsten, barium, niobium, zinc, nickel, manganese, a cerium, cadmium, chromium, cobalt, antimony, iron, an yttrium, a tantalum, a lithium, a bismuth, and tin, the combination of one of these, or other compounds may be used for said electrostrictive ceramics.

[0062] For example, it is also desirable to use the ceramics which uses lead zirconate, lead titanate, and magnesium lead niobate as a principal component, and contains a lanthanum and strontium in this.

[0063] On the other hand, the up electrode 74 and the lower electrode 70 in the actuator section 58 It is desirable to be a solid-state and to consist of conductive metals in a room temperature. For example, aluminum, titanium, chromium, iron, cobalt, nickel, Copper, zinc, niobium, molybdenum, a ruthenium, palladium, a rhodium, The alloy which combined silver, tin, a tantalum, a tungsten, iridium, platinum, gold, or metal simple substances or these either is used, and the cermet ingredient which made these distribute the same ingredient as the piezo-electric layer 72 or a base 50 further may be used.

[0064] Next, it explains, referring to drawing 6 - drawing 9 about the manufacture approach of the DNA chip concerning the gestalt of this operation using this distributive-pouring equipment 30.

[0065] First, as shown in drawing 6 , the manufacture approach concerning the gestalt of the 1st operation carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product. Then, said PCR product is dried and DNA powder is prepared. Then, the sample inlet 52 of each micropipette 34 is filled up with DNA powder through the insertion hole 104 of a fixture 36, respectively from each tube 106, subsequently to in a cavity 56, the buffer solution is poured in from the sample inlet 52, and the sample solution is prepared. Then, the electrical potential difference of extent which excites an oscillation to the actuator section 58 may be impressed, stirring mixing of the liquid with which it fills up in the cavity 56 may be carried out, and the sample solution may be prepared. And after preparation of the sample solution is completed in a cavity 56, the actuator section 58 is made to drive and regurgitation supply of the sample solution is carried out on a substrate 10.

[0066] Next, as shown in drawing 7, first, the manufacture approach concerning the gestalt of the 2nd operation carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product. Then, it is filled up with an PCR product in a cavity 56 from the sample inlet of each micropipette 34 through the introductory hole 104 of a fixture 36, respectively from each tube 106.

[0067] Then, a base 50 is heated at the temperature which is extent to which DNA does not denaturalize, an PCR product is dried, and DNA powder is prepared. Then, the buffer solution is poured in into a cavity 56 from the sample inlet 52, and the sample solution is prepared. Then, the electrical potential difference of extent which excites an oscillation to the actuator section 58 may be impressed, stirring mixing of the liquid with which it fills up in the cavity 56 may be carried out, and the sample solution may be prepared. And after preparation of the sample solution is completed in a cavity 56, the actuator section 58 is made to drive and regurgitation supply of the sample solution is carried out on a substrate 10.

[0068] Next, as shown in drawing 8, first, the manufacture approach concerning the gestalt of the 3rd operation fills up the sample inlet 52 of each micropipette 34 with a DNA fragment through the introductory hole 104 of a fixture 36, respectively from each tube 106, and, subsequently to in a cavity 56, pours in PCR magnification reagents (a primer, an enzyme, the PCR buffer solution, dNTP, distilled water, etc.) from the sample inlet 52. Then, heating cooling of a base 50 is repeated and PCR magnification is performed in a cavity 56.

[0069] Then, a base 50 is heated at the temperature which is extent to which DNA does not denaturalize, an PCR product is dried, and DNA powder is prepared. Then, the buffer solution is poured in into a cavity 56 from the sample inlet 52, and the sample solution is prepared. Then, the electrical potential difference of extent which excites an oscillation to the actuator section 58 may be impressed, stirring mixing of the liquid with which it fills up in the cavity 56 may be carried out, and the sample solution may be prepared. And after preparation of the sample solution is completed in a cavity 56, the actuator section 58 is made to drive and regurgitation supply of the sample solution is carried out on a substrate 10.

[0070] Next, as shown in drawing 9, first, the manufacture approach concerning the gestalt of the 4th operation fills up the sample inlet 52 of each micropipette 34 with a DNA fragment through the introductory hole 104 of a fixture 36, respectively from each tube 106, and, subsequently to in a cavity 56, pours in PCR magnification reagents (a primer, an enzyme, the PCR buffer solution, dNTP, distilled water, etc.) from the sample inlet 52. Then, heating cooling of a base 50 is repeated and PCR magnification is performed in a cavity 56. Then, the actuator section 58 is made to drive and regurgitation supply of the sample solution is carried out on a substrate 10.

[0071] Here, you may heat the whole stationary plate 32, using a heater etc. as the heating approach in a cavity 56, and a substrate 50 may be heated using a laser beam, infrared radiation, an electromagnetic wave, etc. Moreover, as the cooling approach in a cavity 56, the cooling plate of air cooling or a water cooling type may be contacted to a stationary plate 32, you may cool, and the cooling agent which consists of a chlorofluorocarbon-replacing material, liquid nitrogen, etc. may be blown upon a base 50.

[0072] Moreover, in the manufacture approach concerning the gestalt of the 3rd operation shown in drawing 8, the high impurity concentration of an PCR product may be reduced, for the purpose of raising the quality of a DNA chip, after PCR amplifying within a cavity 56, isopropanol precipitate etc. may be performed, and the target DNA may be condensed.

[0073] In addition, as the isopropanol precipitate approach, isopropyl alcohol is first poured in into a cavity 56 from the sample inlet 52. Then, the electrical potential difference of extent which excites an oscillation to the actuator section 58 is impressed, and stirring mixing of the liquid with which it fills up in the cavity 56 is carried out. Then, it is left about 20 minutes. Then, each tube 106 and a breakthrough 40 are closed on a tape etc., it applies to a centrifuge the whole distributive-pouring equipment 30, and the object DNA is settled. Then, it is desirable by sampling a solution using a pipet etc. from a tube 106 to condense the object DNA.

[0074] By the way, as for the completion of PCR magnification and the completion of preparation of the sample solution in a cavity 56, it is desirable to grasp by detecting change of the fluid characteristic in a cavity 56.

[0075] Here, change of the fluid characteristic in a cavity 56 impresses the electrical potential difference of extent which excites an oscillation to the actuator section 58, and grasps it by detecting change of the electric constant accompanying the oscillation. About detection of change of such a fluid characteristic, it is indicated by JP,8-201265,A, for example.

[0076] To the actuator section 58, it is predetermined spacing, and the electrical installation from the power source for regurgitation actuation is separated with a relay, a means to measure resonance frequency is simultaneously connected with a relay, and, specifically, the impedance or resonance frequency in the event is measured electrically.

[0077] Thereby, it can grasp whether the viscosity of a liquid, specific gravity, etc. are the target samples (liquid containing a DNA fragment etc.). That is, in each micropipette 34, since micropipette 34 the very thing functions as a sensor, the configuration of a micropipette 34 can also be simplified.

[0078] And the actuator section 58 is driven on the actuation conditions corresponding to the liquid optimum dose according to the diameter of a spot for which it can ask, and DNA chip 20 is manufactured by repeating supply of the sample solution. Usually, although one minute spot 80 is formed, it carries out by breathing out micropipettes 34-1 - 100 drops of numbers.

[0079] In addition, when the amount of the sample in the sample inlet 52 decreases, it can use up by adding the water solution containing the buffer solution, purified water, or a sodium chloride, making it air bubbles not enter all over passage, and continuing the regurgitation, without leaving the sample solution in a micropipette 34. Similarly completion (termination of the sample regurgitation) of the permutation from a sample to a displacing solution is performed by detection of the viscosity of the liquid using the actuator section 58, and specific gravity.

[0080] Although it is desirable that the permutation of the displacing solution in a cavity 56 and the sample solution is performed by the laminar flow here, when the class of sample solution changed, or when the passing speed of a liquid is very quick, the neighborhood part of the 1st free passage hole 62 may not necessarily be a laminar flow among cavities 56. In this case, by mixing of a sample and a displacing solution, although the amount of purges of the sample solution increases, buildup of the amount of purges can be suppressed to min by judging the completion of a permutation by detecting change of the fluid characteristic in a cavity 56.

[0081] Moreover, it is desirable to use what removed the dissolved gas in a solution through deaeration actuation as the displacing solution to be used and the sample solution beforehand. In case it is filled up with a solution in the passage of a micropipette 34 by using such a solution, even when air bubbles are caught and restoration becomes deficient in the middle of passage, while melting the air bubbles into a solution and being able to avoid nonconformity, air bubbles are not generated in a fluid in the middle of the regurgitation, and regurgitation nonconformity is not produced.

[0082] Thus, in the manufacture approach of the DNA chip concerning the gestalt of this operation, it is made to process within the same distributive-pouring equipment 30 after drying the processing which mixes the buffer solution with DNA powder and prepares the sample solution, or an PCR product and preparing DNA powder until it prepares the sample solution from the processing which mixes the buffer solution and prepares the sample solution, or PCR magnification.

[0083] Therefore, without degrading the quality of the sample solution, from PCR magnification to [from preparation of the sample solution to a provisioning process] a provisioning process can be performed at a series of processes, moreover, simplification of the storage facility of the sample solution can be realized and upgrading of cheap-izing of cost and a DNA chip can be planned. Moreover, since the process which moves the sample solution to other containers becomes unnecessary, the utilization factor of the sample solution can be raised. Furthermore, since from PCR magnification to [from preparation of the sample solution to a provisioning process] a provisioning process is performed within one distributive-pouring equipment 30, the sample solution hardly touches atmospheric air and it can prevent deterioration of the sample solution.

[0084] In addition, the manufacture approach of the DNA chip concerning this invention of the ability of various configurations to be taken is natural, without deviating not only from the gestalt of above-mentioned operation but from the summary of this invention.

[0085]

[Effect of the Invention] Without degrading the quality of the sample solution according to the manufacture approach of DNA concerning this invention, as explained above, processing from preparation of the sample solution to supply or processing from PCR magnification to supply can be performed at a series of processes, moreover, improvement in the utilization factor of the sample solution and simplification of the storage facility of the sample solution can be realized, and improvement in the quality of cheap-izing of cost and a DNA chip can be aimed at.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

[Drawing 1]

FIG. 1A

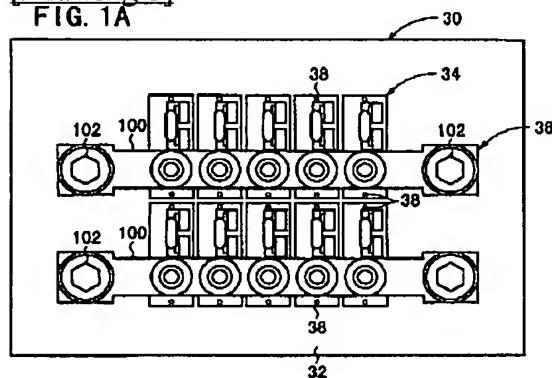


FIG. 1B

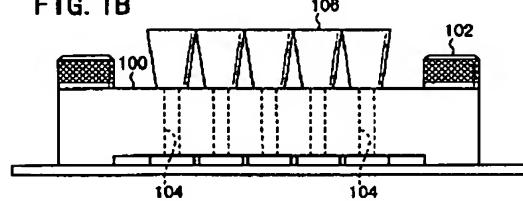
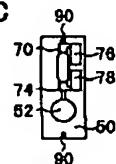
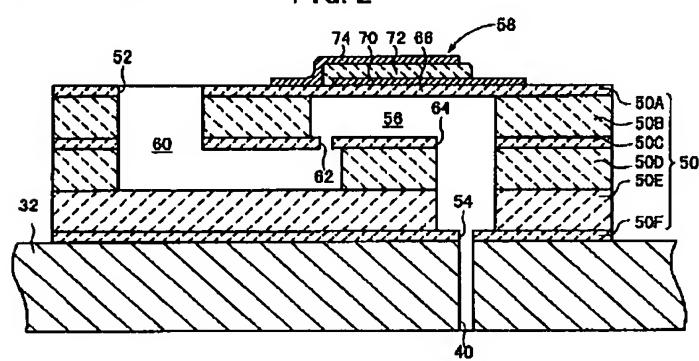


FIG. 1C



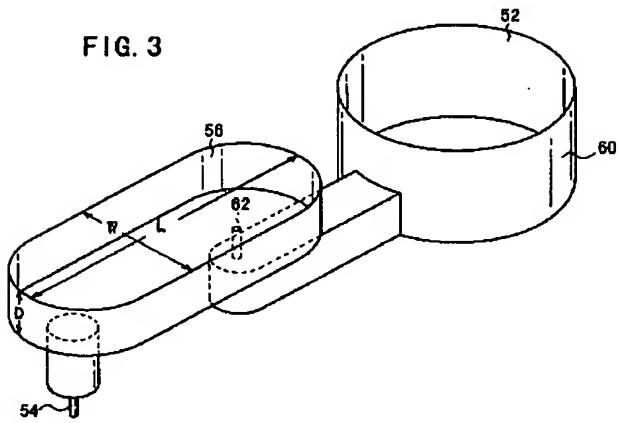
[Drawing 2]

FIG. 2



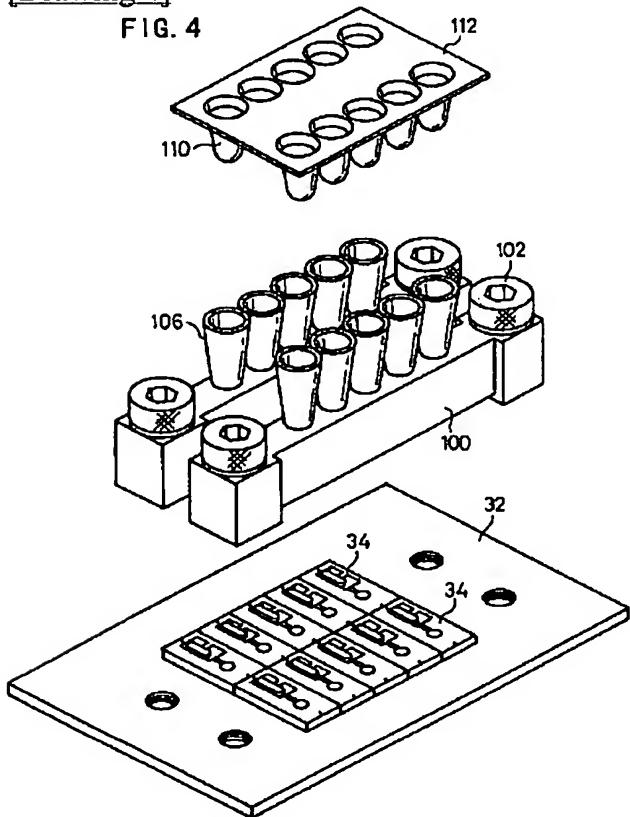
[Drawing 3]

FIG. 3



[Drawing 4]

FIG. 4



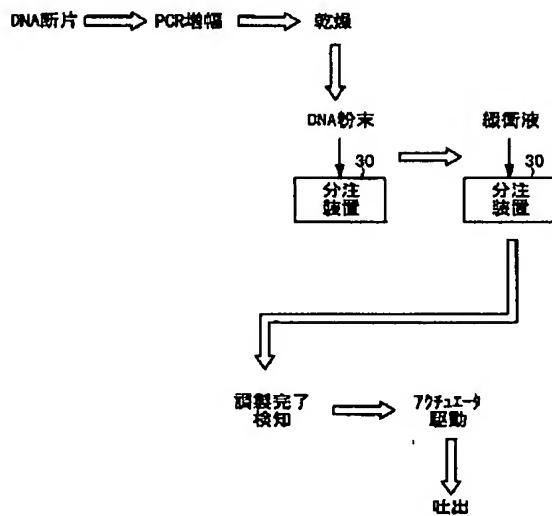
[Drawing 5]

FIG. 5



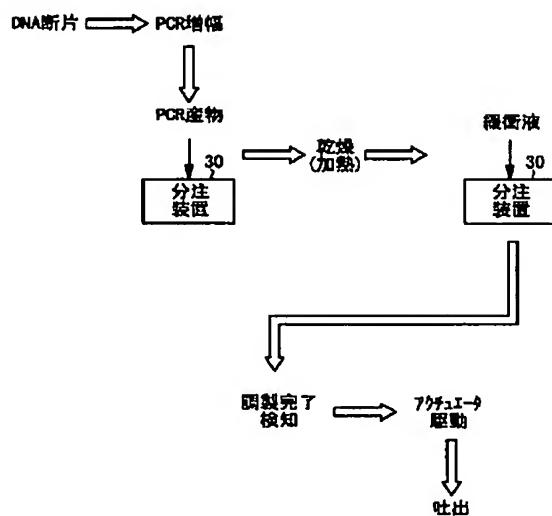
[Drawing 6]

FIG. 6



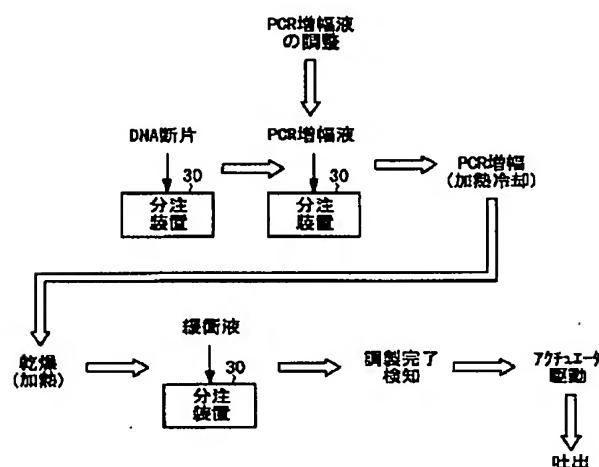
[Drawing 7]

FIG. 7



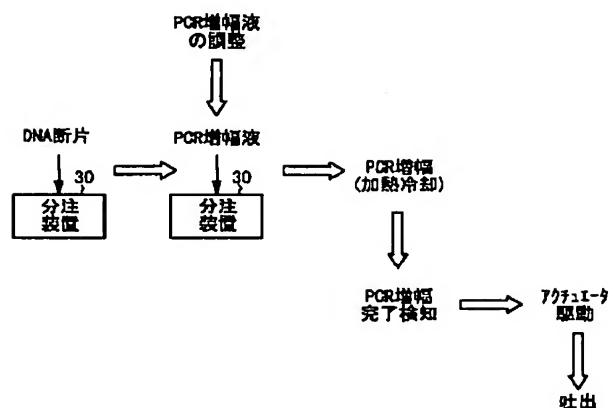
[Drawing 8]

FIG. 8



[Drawing 9]

FIG. 9



[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and INPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CORRECTION OR AMENDMENT

[Kind of official gazette] Printing of amendment by the convention of 2 of Article 17 of Patent Law
 [Category partition] The 1st partition of the 1st category
 [Publication date] December 25, Heisei 13 (2001. 12.25)

[Publication No.] JP,2001-186881,A (P2001-186881A)
 [Date of Publication] July 10, Heisei 13 (2001. 7.10)
 [Annual volume number] Open patent official report 13-1869
 [Application number] Application for patent 2000-89979 (P2000-89979)
 [The 7th edition of International Patent Classification]

C12N 15/09
 C12M 1/00
 C12N 11/16
 C12Q 1/68
 G01N 33/53
 33/566
 35/02
 35/10

[FI]

C12N 15/00 A
 C12M 1/00 A
 C12N 11/16
 C12Q 1/68 A
 G01N 33/53 M
 33/566
 35/02 F
 35/06 A

[Procedure amendment]
 [Filing Date] August 6, Heisei 13 (2001. 8.6)
 [Procedure amendment 1]
 [Document to be Amended] Description

[Item(s) to be Amended] 0030
 [Method of Amendment] Modification
 [Proposed Amendment]

[0030] As shown in drawing 2, the breakthrough 40 is formed in the part corresponding to the sample delivery 54 of a micropipette 34 at said stationary plate 32, respectively. By this, the sample solution breathed out from the sample delivery 54 of a micropipette 34 will be supplied to the substrate 10 fixed under the stationary plate 32 through said breakthrough 40.

[Procedure amendment 2]
 [Document to be Amended] Description
 [Item(s) to be Amended] 0065
 [Method of Amendment] Modification
 [Proposed Amendment]

[0065] First, as shown in drawing 6, the manufacture approach concerning the gestalt of the 1st operation carries out PCR magnification of the DNA fragment, and prepares an PCR product. Then, said PCR product is dried and DNA powder is prepared. Then, the sample inlet 52 of each micropipette 34 is filled up with DNA powder through the introductory hole 104 of a fixture 36, respectively from each tube 106, subsequently to in a cavity 56, the buffer solution is poured in from the sample inlet 52, and the sample solution is prepared. Then, the electrical potential difference of extent which excites an oscillation to the actuator section 58 may be impressed, stirring mixing of the liquid with which it fills up in the cavity 56 may be carried out, and the sample solution may be prepared. And after preparation of the sample solution is completed in a cavity 56, the actuator section 58 is made to drive and regurgitation supply of the sample solution is carried out on a substrate 10.

[Procedure amendment 3]

[Document to be Amended] DRAWINGS

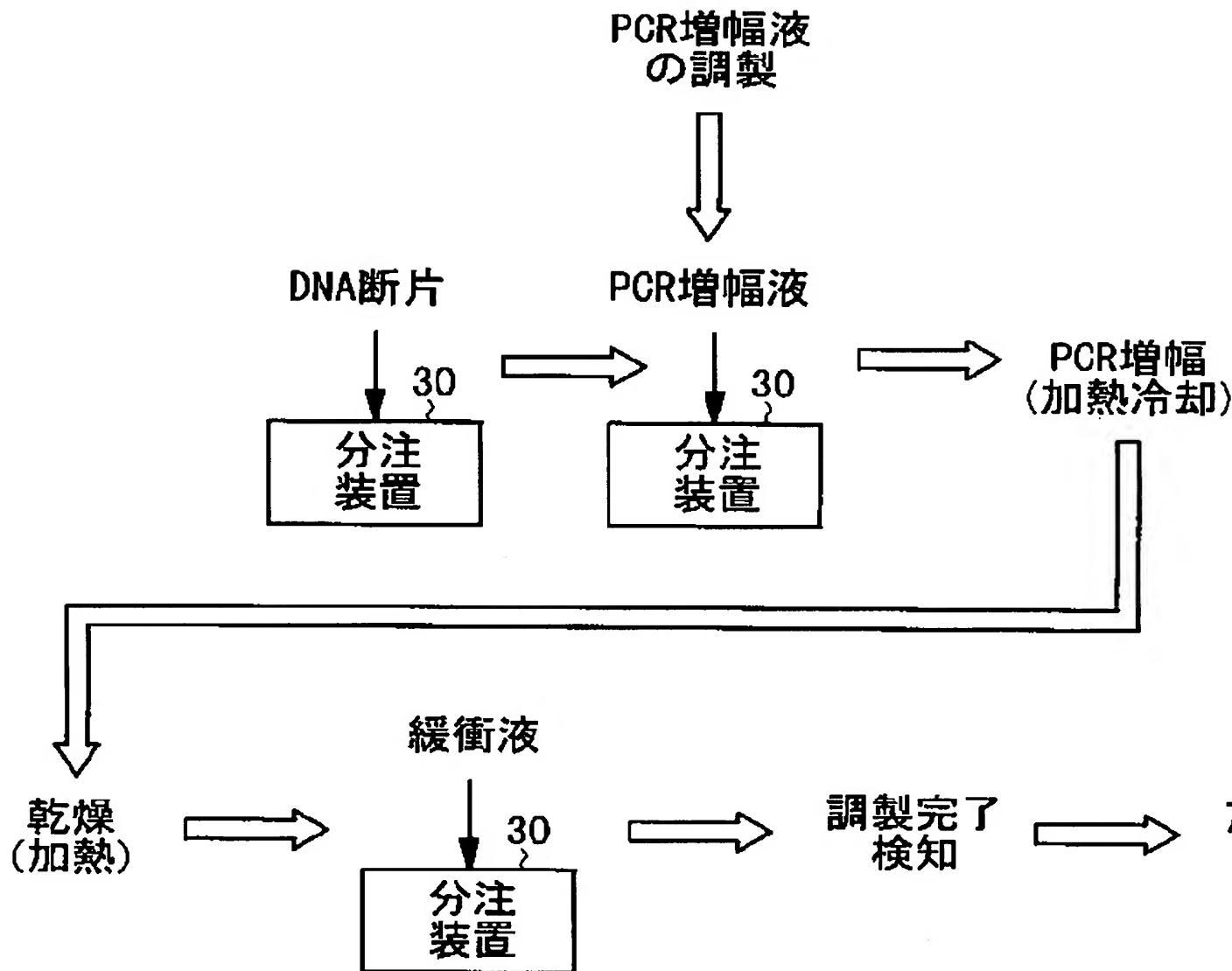
[Item(s) to be Amended] drawing 8

[Method of Amendment] Modification

[Proposed Amendment]

[Drawing 8]

FIG. 8



[Procedure amendment 4]

[Document to be Amended] DRAWINGS

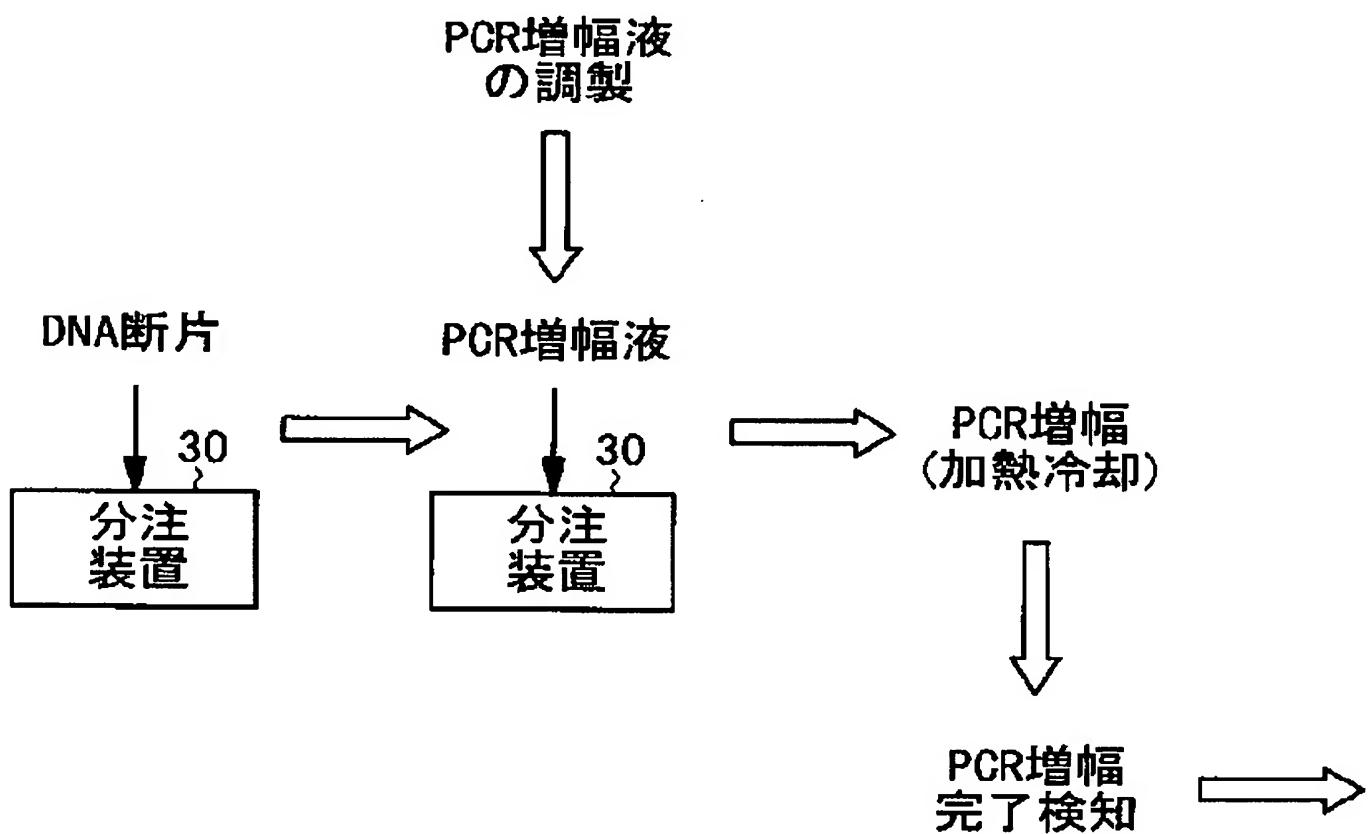
[Item(s) to be Amended] drawing 9

[Method of Amendment] Modification

[Proposed Amendment]

[Drawing 9]

FIG. 9



[Translation done.]